


B30

**Benzodiazapine compounds containing imidazole propanamido and its preparing process and application****Publication number:** CN1338456 (A)**Also published as:****Publication date:** 2002-03-06 CN1179752 (C)**Inventor(s):** GUO ZONGRU [CN]; CHEN XIAOGUANG [CN]; ZHU FENGMING [CN]**Applicant(s):** INST OF MEDICAL MATERIALS CHIN [CN]**Classification:**

**- international:** A61K31/18; A61K31/405; A61K31/54; A61K45/00; A61P27/02; A61P35/00; A61P43/00; C07D243/24; C07D243/26; C07D403/12; A61K31/18; A61K31/403; A61K31/54; A61K45/00; A61P27/00; A61P35/00; A61P43/00; C07D243/00; C07D403/00; (IPC1-7): C07D243/24; A61P35/00; A61P43/00; C07D243/26; C07D403/12

**- European:****Application number:** CN20001023521 20000816**Priority number(s):** CN20001023521 20000816**Abstract of CN 1338456 (A)**

A benzodiazapine compound containing imidazole-propanamide, its preparing process, its function of suppressing farnesyl protein transferase and the farnesylation of cancer gene Ras protein, and its application to treat the cancers relative to farnesyl protein transferase are disclosed.

---

Data supplied from the esp@cenet database — Worldwide

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl<sup>7</sup>

C07D243/24

# [12] 发明专利申请公开说明书

C07D243/26 C07D403/12

A61P 35/00 A61P 43/00

[21] 申请号 00123521.4

[43] 公开日 2002 年 3 月 6 日

[11] 公开号 CN 1338456A

[22] 申请日 2000.8.16 [21] 申请号 00123521.4

[71] 申请人 中国医学科学院药物研究所  
地址 100050 北京市先农坛大街 1 号  
[72] 发明人 郭宗儒 陈晓光 褚凤鸣

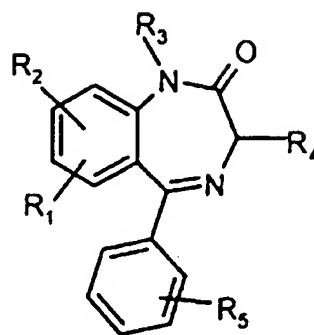
[74] 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司  
代理人 沙捷

权利要求书 6 页 说明书 17 页 附图页数 0 页

[54] 发明名称 含咪唑丙酰胺基的苯并二氮杂卓类化合物以及制法和用途

[57] 摘要

本发明涉及含有咪唑基的苯并二氮杂卓类化合物,特别是涉及通式 I 的新化合物及其制备方法,和这些化合物在抑制法尼基蛋白转移酶和抑制癌基因 Ras(见式 I)蛋白法尼基化的作用。本发明还涉及这些化合物作为药物治疗与法尼基蛋白转移酶相关的癌症的应用。

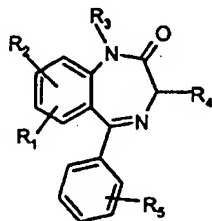


I

ISSN 1008-4274

# 权 利 要 求 书

1. 如通式 I 的含咪唑丙酰胺基的苯并二氮杂卓化合物



I

式中,

$R_1$  选自  $N^\circ$ -乙酰组氨酰胺基、 $N^\circ$ -苯甲酰组氨酰胺基、3-(4-咪唑基)丙酰胺基、3-(4-咪唑基)丙烯酰胺基、硝基、氨基;

$R_2$  选自氢、卤素;

$R_3$  选自氢、 $\omega$ -烷氧羰基烷基、 $\omega$ -羧基烷基或烷基;

$R_4$  选自氢、烷氧基等;

$R_5$  选自氢、卤素。

2、如权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于所述的卤素是氟、氯和溴。

3、如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其特征在于所述的  $R_3$  中所述的烷基是甲基、乙基、异丙基和苄基。

4、如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其特征在于所述的  $R_4$  中所述的烷氧基是甲氧基、乙氧基、正丙氧基异丙氧基或苄氧基。

5、如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其特征在于所述的  $R_3$  的羧基或烷氧羰基经 1, 2, 3 个碳原子相连。

6、如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其特征在于该化合物是 7-硝基-1-乙氧羰基亚甲基苯并二氮杂卓。

7、如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其特征在于该化合物是 7-硝基-1-(2-甲氧羰基乙基) 苯并二氮杂卓。

8、如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其特征在于该化合物是 7-硝基-1-(3-乙氧

羧基丙基) 苯并二氮杂卓。

9、如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其特征在于该化合物是 7-氨基-1-乙氧羰基亚甲基苯并二氮杂卓。

10、如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其特征在于该化合物是 7-氨基-1-(2-甲氧羰基乙基) 苯并二氮杂卓。

11、如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其特征在于该化合物是 7-氨基-1-(3-乙氧羰基丙基) 苯并二氮杂卓。

12、如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其特征在于该化合物是 7-(N<sup>o</sup>-乙酰组胺酰胺基)-1-乙氧羰基亚甲基苯并二氮杂卓。

13、如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其特征在于该化合物是 7-(N<sup>o</sup>-乙酰组胺酰胺基)-1-羧基亚甲基苯并二氮杂卓。

14、如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其特征在于该化合物是 7-(N<sup>o</sup>-乙酰组胺酰胺基)-1-(2-甲氧羰基乙基) 苯并二氮杂卓。

15、如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其特征在于该化合物是 7-(N<sup>o</sup>-乙酰组胺酰胺基)-1-(2-羧基乙基) 苯并二氮杂卓。

16、如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其特征在于该化合物是 7-(N<sup>o</sup>-乙酰组胺酰胺基)-1-(3-乙氧羰基丙基) 苯并二氮杂卓。

17、如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其特征在于该化合物是 7-(N<sup>o</sup>-乙酰组胺酰胺基)-1-(3-羧基丙基) 苯并二氮杂卓。

18、如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其特征在于该化合物是 7-(N<sup>o</sup>-苯甲酰组胺酰胺基)-1-乙氧羰基亚甲基苯并二氮杂卓。

19、如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其特征在于该化合物是 7-(N<sup>o</sup>-苯甲酰组胺酰胺基)-1-羧基亚甲基苯并二氮杂卓。

20、如权利要求 1 或 2 所述的化合物，其特征在于该化合物是 7-(N<sup>o</sup>-苯甲酰组胺酰胺基)-1-(2-甲氧羰基乙基) 苯并二氮杂卓。

21、如权利要求 1 或 2 所述的化合物，其特征在于该化合物是 7-(N<sup>o</sup>-苯甲酰组胺酰胺基)-1-(2-羧基乙基) 苯并二氮杂卓。

22、如权利要求 1 或 2 所述的化合物，其特征在于该化合物是 7-(N<sup>o</sup>-苯甲酰组胺酰胺基)-1-(3-乙氧羰基丙基) 苯并二氮杂卓。

23、如权利要求 1 或 2 所述的化合物，其特征在于该化合物是 7-(N<sup>o</sup>-苯甲酰组胺酰胺基)-1-(3-羧基丙基) 苯并二氮杂卓。

24、如权利要求 1 或 2 所述的化合物，其特征在于该化合物是 7-(3-(4-咪唑基) 丙烯酰胺基)-1-乙氧羰基亚甲基苯并二氮杂卓。

25、如权利要求 1 或 2 所述的化合物，其特征在于该化合物是 7-(3-(4-咪唑基) 丙烯酰胺基)-1-羧基亚甲基苯并二氮杂卓。

26、如权利要求 1 或 2 所述的化合物，其特征在于该化合物是 7-(3-(4-咪唑基) 丙酰胺基)-1-乙氧羰基亚甲基苯并二氮杂卓。

27、如权利要求 1 或 2 所述的化合物，其特征在于该化合物是 7-(3-(4-咪唑基) 丙酰胺基)-1-羧基亚甲基苯并二氮杂卓。

28、如权利要求 1 或 2 所述的化合物，其特征在于该化合物是 7-(3-(4-咪唑基) 丙酰胺基)-1-(2-甲氧羰基乙基) 苯并二氮杂卓。

29、如权利要求 1 或 2 所述的化合物，其特征在于该化合物是 7-(3-(4-咪唑基) 丙酰胺基)-1-(2-羧基乙基) 苯并二氮杂卓。

30、如权利要求 1 或 2 所述的化合物，其特征在于该化合物是 7-(3-(4-咪唑基) 丙酰胺基)-1-(3-乙氧羰基丙基) 苯并二氮杂卓。

31、如权利要求 1 或 2 所述的化合物，其特征在于该化合物是 7-(3-(4-咪唑基) 丙酰胺基)-1-(3-羧基丙基) 苯并二氮杂卓。

32、一种制备如权利要求 1 所述的含咪唑丙酰胺基的苯并二氮杂卓化合物的方

法，其特征是包括如下步骤：

(1) 选自溶剂 DMF、DMSO、二氧六环、乙二醇独甲醚、乙腈或甲醇，在 0-80℃ 条件下，在选自碳酸钠、碳酸氢钠、碳酸钾、碳酸氢钾、氢氧化钠、氢化钠的作用下，将溴代脂肪酸酯与 7-硝基苯并二氮杂卓反应，得到 7-硝基-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基) 苯并二氮杂卓；

(2) 将得到 7-硝基-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基) 苯并二氮杂卓在还原剂作用下，还原为 7-氨基-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基) 苯并二氮杂卓；

(3) L-组氨酸在乙酰氯或乙酸酐或苯甲酰氯作用下生成 N<sup>o</sup>-L-乙酰组氨酸和 N<sup>o</sup>-L-苯甲酰组氨酸；

(4) N<sup>o</sup>-L-乙酰组氨酸或 N<sup>o</sup>-L-苯甲酰组氨酸或 3-(4-咪唑基) 丙烯酸和 2,4-二硝基氟苯反应得到 N<sup>m</sup>-2,4-二硝基苯基-N<sup>o</sup>-乙酰基组氨酸或 N<sup>m</sup>-2,4-二硝基苯基-N<sup>o</sup>-苯甲酰基组氨酸或 3-(4-(N<sup>m</sup>-2,4-二硝基苯基咪唑基)) 丙烯酸；

(5) N<sup>m</sup>-Dnp-乙酰基组氨酸、N<sup>m</sup>-Dnp-苯甲酰基组氨酸或 3-(4-(N<sup>m</sup>-Dnp 咪唑基)) 丙烯酸在 DCC 和 HOBt 存在下与 7-氨基-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基) 苯并二氮杂卓反应，合成 Dnp 保护的取代 4-咪唑丙酰胺基-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基) 苯并二氮杂卓；

(6) 7-Dnp 保护的取代咪唑丙酰胺基-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基) 苯并二氮杂卓与巯基乙醇反应得到 7-取代咪唑丙酰胺基-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基) 苯并二氮杂卓化合物。再用氢氧化锂水解，在酸化即得到本发明的目的物。

33、如权利要求 32 所述的化合物的方法，其特征是将选自氢、6-, 8-或 9-卤素、1-甲基，乙基，丙基，异丙基，苄基、3-甲氧基，乙氧基，正丙氧基，异丙氧基，苄氧基基团取代 7-硝基-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基) 苯并二氮杂卓在还原剂的作用下，还原为 7-氨基-所述取代的苯并二氮杂卓。

34、如权利要求 32 或 33 所述的化合物的方法，其特征是得到的 7-氨基-所述取代的苯并二氮杂卓在 DCC 和 HOBt 存在下，与 N<sup>m</sup>-Dnp-乙酰基组氨酸、N<sup>m</sup>-Dnp-苯甲酰基组氨酸或 3-(4-(N<sup>m</sup>-Dnp 咪唑基)) 丙烯酸反应，合成 7-保护的取代



咪唑丙酰胺基-所述取代的苯并二氮杂卓；再用巯基乙醇脱保护和用氢氧化锂水解后，得到 7-取代咪唑丙酰胺基-所述取代的苯并二氮杂卓。

35、一种制备如权利要求 1 所述的含咪唑丙酰胺基的苯并二氮杂卓化合物的方法，其特征是包括如下步骤：

(1) 选自溶剂 DMF、DMSO、二氧六环、乙二醇独甲醚、乙醚或甲醇，在 0-80℃ 条件下，在选自碳酸钠、碳酸氢钠、碳酸钾、碳酸氢钾、氢氧化钠、氢化钠的作用下，将溴代脂肪酸酯与 7-硝基苯并二氮杂卓反应，得到 7-硝基-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基)苯并二氮杂卓；

(2) 将得到 7-硝基-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基) 苯并二氮杂卓在还原剂作用下, 还原为 7-氨基-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基) 苯并二氮杂卓;

(3) 3-(4-咪唑基)丙烯酸在 Pd/C-H<sub>2</sub>作用下还原为 3-(4-咪唑基)丙酸;

(4) 3-(4-咪唑基)丙酸与氯化亚砷反应得到咪唑-丙酰氯, 此酰氯再与 7-氨基-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基)苯并二氮杂卓反应, 生成 7-(3-(4-咪唑基)丙酰胺基)-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基)苯并二氮杂卓, 再用氢氧化锂水解, 酸化得到本发明的目的物。

36、如权利要求 35 所述的化合物的方法，其特征是将选自氢、6-，8-或 9-卤素、1-甲基，乙基，丙基，异丙基，苄基、3-甲氧基，乙氧基，正丙氧基，异丙氧基，苄氧基基团取代 7-硝基-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基) 苯并二氮杂卓在还原剂的作用下，还原为 7-氨基-所述取代的苯并二氮杂卓。

37、如权利要求 35 或 36 所述的化合物的方法，其特征是将得到的 7-氨基-所述取代的苯并二氮杂卓在 DCC 和 HOBt 存在下，与 N<sup>m</sup>-Dnp-乙酰基组氨酸、N<sup>m</sup>-Dnp-苯甲酰基组氨酸或 3-(4-(N<sup>m</sup>-Dnp 咪唑基)) 丙烯酸反应，合成 7-保护的取代咪唑丙酰胺基-所述取代的苯并二氮杂卓；再用巯基乙醇脱保护和用氢氧化锂水解后，得到 7-取代咪唑丙酰胺基-所述取代的苯并二氮杂卓。

38、如制备权利要求 35 中所述的化合物的方法，其特征是得到的 7-氨基-所述

取代的苯并二氮杂卓，与 3-(4-咪唑基)丙酰氯反应，生成 7-咪唑丙酰胺基-所述取代的苯并二氮杂卓；再用氢氧化锂水解，酸化得到 7-取代咪唑丙酰胺基-所述取代的苯并二氮杂卓。

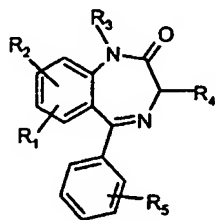
39、一种如权利要求 1 所述的化合物在制备抑制法尼基蛋白转移酶抑制剂中的应用。

40、如权利要求 39 所述的应用，其特征在于用于治疗癌症。



## 含咪唑丙酰胺基的苯并二氮杂卓类化合物以及制法和用途

本发明涉及含有咪唑基的苯并二氮杂卓类化合物，特别是涉及通式 I 的新化合物及其制备方法，和这些化合物在抑制法尼基蛋白转移酶和抑制癌基因 Ras 蛋白法尼基化的作用。本发明还涉及这些化合物作为药物治疗与法尼基蛋白转移酶相关的癌症的应用。



(I)

抗癌药物是目前药物研究开发的重要内容之一，特别是针对特定靶位的抗癌药物设计和开发已成为抗癌药物研究的主流。

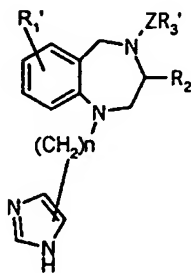
Ras 原癌基因在细胞正常生长过程中起很重要的作用，Ras 基因发生突变会使细胞增殖难以控制，研究发现 50% 的结肠癌中和 90% 的胰腺癌中存在 Ras 癌基因。Ras 癌基因的表达物 Ras 蛋白在细胞生长和增殖过程中起信号转导作用。正常 Ras 蛋白作用过程是以 GTP 的活性结合形式开始，经过法尼基化到细胞膜内侧进行信号转导，再水解为 GDP 的非活性形式这样一个循环过程。一旦 Ras 基因发生突变，Ras 蛋白则始终结合为 GTP 形式，连续的生长信号转导导致细胞的恶性增殖，造成组织的癌变。在整个信号转导过程中 Ras 蛋白结合到细胞膜上才能起作用，但因本身疏水性差难以结合到细胞膜上，Ras 蛋白须在法尼基蛋白转移酶 (FPTase) 催化下进行法尼基化，增加其亲脂性，以利于与细胞膜的结合。所有的 Ras 蛋白末端均有一个向外伸展片段，即 CAAX。法尼基化即发生在 CAAX 上，其中 C 为 Cys, A 为疏水性氨基酸，X 为 Met 或 Ser 等可与法尼基蛋白转移酶特异性结合的氨基酸。法尼基化即 FPP (法尼基焦磷酸酯) 中的法尼基 (十五碳三烯) 与 Cys 中的巯基结合的过程。因此能抑制法尼基蛋白转移酶的活性，阻止 Ras 蛋白进行信号转导，将是寻找具有应用价值的

抗癌药物的新途径。

本发明是基于 CAAX 结构小分子模拟肽的法尼基蛋白转移酶抑制剂。

近期发现法尼基蛋白转移酶同家族酶香叶基酶(GGTase), 尤其是 GGTase-I 酶在细胞分化和增殖过程中起很重要的信号传导作用。并发现许多现有的法尼基蛋白转移酶抑制剂, 对 GGTase-I 酶有抑制活性。本发明的化合物对 GGTase 酶有潜在的抑制活性, 对与 GGTase 酶相关的疾病有潜在的药用价值。

迄今为止对法尼基蛋白转移酶抑制剂的研究非常活跃, 现有技术中记载专利 WO 99/ 30,992 报道的一类含有咪唑基和苯并二氮杂卓环化合物对法尼基蛋



白转移酶具有一定抑制作用。它的结构特征如下

$R_1' = F, Cl, Br, CN$ ;  $R_2', R_3' = ArCH_2$ ; Ar 为  $R_1$  取代的苯基。

$Z = CO, SO_2, CO_2, CONR, SO_3$ 。

但这类化合物活性不高, 对酶和细胞作用的选择性差。

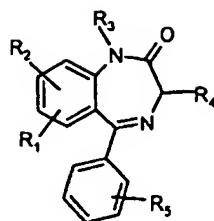
本发明的目的是在于提供一种新型咪唑丙酰胺基取代的苯并二氮杂卓化合物:

本发明的另一目的在于提供一种制备咪唑丙酰胺基取代的苯并二氮杂卓的方法;

本发明的又一目的在于提供一种该类化合物在抑制法尼基蛋白转移酶和治疗以抑制法尼基蛋白转移酶为机理的疾病的药物中的用途。

为了完成本发明之目的, 本发明采用如下技术方案:

本发明是涉及具有通式 I 的新型化合物:



I

式中：

$R_1$  选自  $N^\circ$ -乙酰组氨酰胺基、 $N^\circ$ -苯甲酰组氨酰胺基、3-(4-咪唑基)丙酰胺基、3-(4-咪唑基)丙烯酰胺基、硝基、氨基；

$R_2$  选自氢、卤素；

$R_3$  选自氢、 $\omega$ -烷氧羰基烷基、 $\omega$ -羧基烷基或烷基；

$R_4$  选自氢、烷氧基；

$R_5$  选自氢、卤素。

本发明中所述的卤素是氟、氯和溴。本发明还涉及通式 I 所示的化合物，其中  $R_3$  中所述的烷基是甲基、乙基、丙基、异丙基和苄基， $R_4$  中所述的烷氧基是甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基或苄氧基。 $R_3$  的羧基或烷氧羰基经 1, 2, 3 个碳原子相连。

现有技术中没有完全制备通式 I 所述的化合物的方法。

为了制备本发明 I 所述的化合物，本发明用两种方法来完成：

方法一：

该方法包括在碱性条件下，将 7-硝基苯并二氮杂卓与溴代脂肪酸酯反应，得到 7-硝基-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基)苯并二氮杂卓，然后还原硝基为氨基，再与取代的咪唑丙酸反应，最后再经过脱保护基和水解得到本发明目的物。

方法一的具体步骤如下：

一种制备具有法尼基蛋白转移酶抑制剂作用的通式 I 化合物的方法，其特征是包括如下步骤：

(1) 选自溶剂 DMF、DMSO、二氧六环、乙二醇独甲醚、乙醚或甲醇，在 0-80℃ 条件下，在选自碳酸钠、碳酸氢钠、碳酸钾、碳酸氢钾、氢氧化钠、氯化钠

的作用下，将溴代脂肪酸酯与 7-硝基苯并二氮杂卓反应，得到 7-硝基-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基)苯并二氮杂卓；

(2) 将得到 7-硝基-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基)苯并二氮杂卓在还原剂作用下，还原为 7-氨基-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基)苯并二氮杂卓；

(3) L-组氨酸在乙酰氯或乙酸酐或苯甲酰氯作用下生成  $N^{\circ}$ -L-乙酰组氨酸和  $N^{\circ}$ -L-苯甲酰组氨酸；

(4)  $N^{\circ}$ -L-乙酰组氨酸或  $N^{\circ}$ -L-苯甲酰组氨酸或 3-(4-咪唑基)丙烯酸和 2,4-二硝基氟苯反应得到  $N^{\text{m}}$ -2,4-二硝基苯基- $N^{\circ}$ -乙酰基组氨酸(简称为  $N^{\text{m}}$ -Dnp-乙酰基组氨酸)或  $N^{\text{m}}$ -2,4-二硝基苯基- $N^{\circ}$ -苯甲酰基组氨酸或 3-(4-( $N^{\text{m}}$ -2,4-二硝基苯基咪唑基))丙烯酸；

(5)  $N^{\text{m}}$ -Dnp-乙酰基组氨酸、 $N^{\text{m}}$ -Dnp-苯甲酰基组氨酸或 3-(4-( $N^{\text{m}}$ -Dnp 咪唑基))丙烯酸在 DCC 和 HOBt 存在下与 7-氨基-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基)苯并二氮杂卓反应，合成 7-Dnp 保护的取代 4-咪唑丙酰胺基-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基)苯并二氮杂卓；

(6) 7-Dnp 保护的取代咪唑丙酰胺基-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基)苯并二氮杂卓与巯基乙醇反应得到 7-取代咪唑丙酰胺基-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基)苯并二氮杂卓化合物。再用氢氧化锂水解，酸化得到本发明的目的物。

该方法中使用的还原剂为如  $\text{Pd/C-H}_2$ , RaneyNi- $\text{H}_2$ ,  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  等。

在方法一中可以将选自氢、6-, 8-或 9-卤素、1-甲基，乙基，丙基，异丙基，苄基、3-甲氧基，乙氧基，正丙氧基，异丙氧基，苄氧基基团取代 7-硝基-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基)苯并二氮杂卓在还原剂的作用下，还原为 7-氨基-所述取代的苯并二氮杂卓。

另外，得到的 7-氨基-所述取代的苯并二氮杂卓可以在 DCC 和 HOBt 存在下，可以与  $N^{\text{m}}$ -Dnp-乙酰基组氨酸、 $N^{\text{m}}$ -Dnp-苯甲酰基组氨酸或 3-(4-( $N^{\text{m}}$ -Dnp

咪唑基)) 丙烯酸反应, 合成 7-保护的取代咪唑丙酰胺基-所述取代的苯并二氮杂卓; 再用巯基乙醇脱保护和用氢氧化锂水解后, 得到 7-取代咪唑丙酰胺基-所述取代的苯并二氮杂卓。

本发明的产物也可以经过另一方法制得, 即方法二, 它包括在碱性条件下 7-硝基苯并二氮杂卓与溴代脂肪酸酯反应得到 7-硝基-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基)苯并二氮杂卓, 然后还原硝基为氨基, 再与咪唑丙酰氯反应, 最后水解、酸化得到本发明目的物。

其具体步骤如下:

一种制备具有法尼基蛋白转移酶抑制剂作用的通式 I 化合物的方法, 其特征是包括如下步骤:

(1) 选自溶剂 DMF、DMSO、二氧六环、乙二醇独甲醚、乙氧或甲醇, 在 0-80℃条件下, 在选自碳酸钠、碳酸氢钠、碳酸钾、碳酸氢钾、氢氧化钠、氢化钠的作用下, 将溴代脂肪酸酯与 7-硝基苯并二氮杂卓反应, 得到 7-硝基-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基)苯并二氮杂卓;

(2) 将得到 7-硝基-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基)苯并二氮杂卓在还原剂作用下, 还原为 7-氨基-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基)苯并二氮杂卓;

(3) 3-(4-咪唑基)丙烯酸在 Pd/C-H<sub>2</sub>作用下还原为 3-(4-咪唑基)丙酸;

(4) 3-(4-咪唑基)丙酸与氯化亚砷反应得到咪唑-丙酰氯, 此酰氯再与 7-氨基-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基)苯并二氮杂卓反应, 生成 7-(3-(4-咪唑基)丙酰胺基)-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基)苯并二氮杂卓, 再用氢氧化锂水解, 酸化得到本发明目的物。

本发明两个方法中的酸化步骤, 其 pH 值为 3—6。

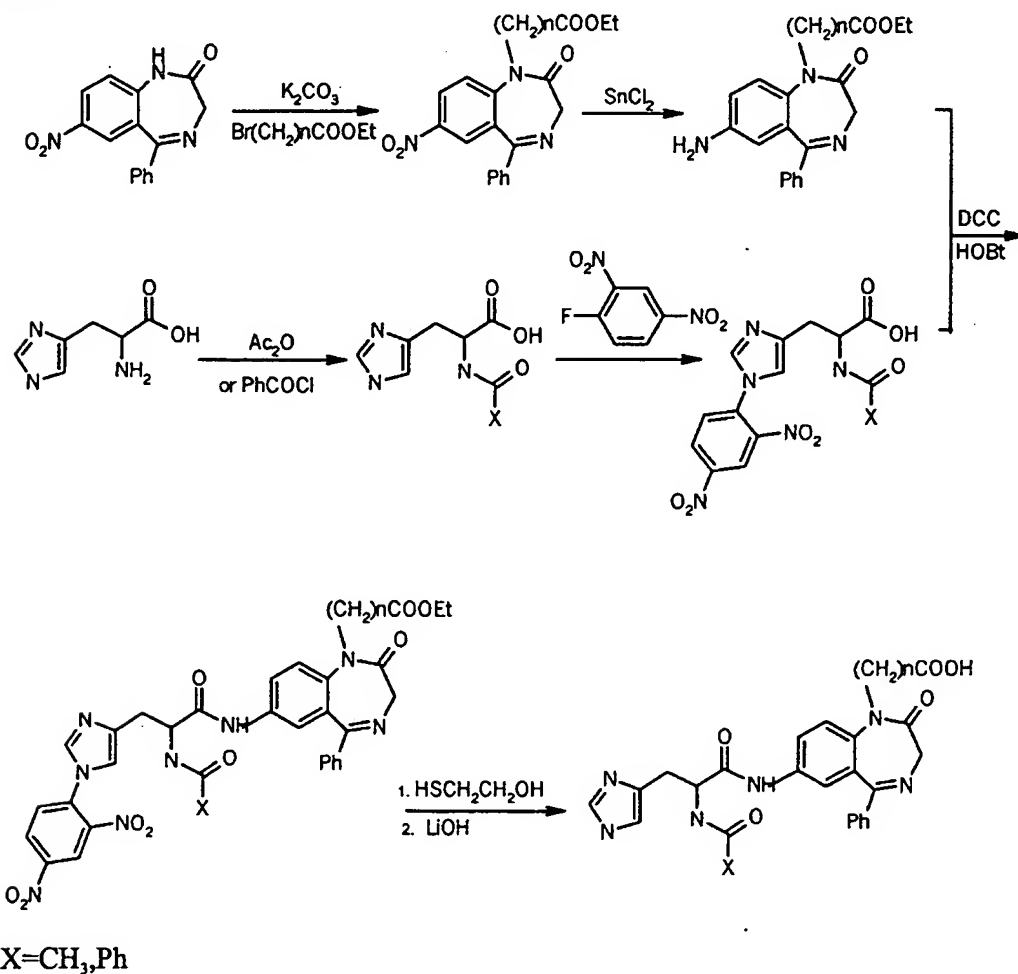
在方法二中, 可以将选自氢、6-, 8-或 9-卤素、1-甲基, 乙基, 丙基, 异丙基, 苄基、3-甲氧基, 乙氧基, 正丙氧基, 异丙氧基, 苄氧基基团取代 7-硝基-

1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基)苯并二氮杂卓在还原剂的作用下,还原为 7-氨基-所述取代的苯并二氮杂卓。

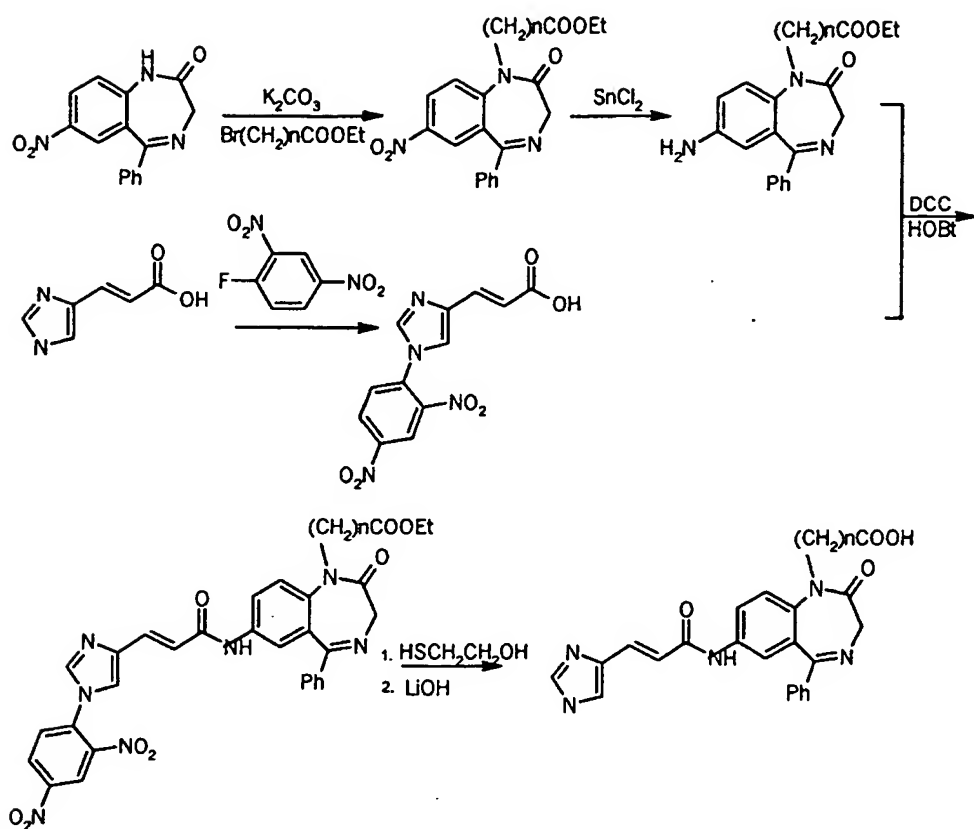
将得到的 7-氨基-所述取代的苯并二氮杂卓,可以与 3-(4-咪唑基)丙酰氯反应,生成 7-咪唑丙酰胺基-所述取代的苯并二氮杂卓;再用氢氧化锂水解,酸化得到 7-咪唑丙酰胺基-所述取代的苯并二氮杂卓。

以下结合结构图描述本发明通式 I 的合成路线:

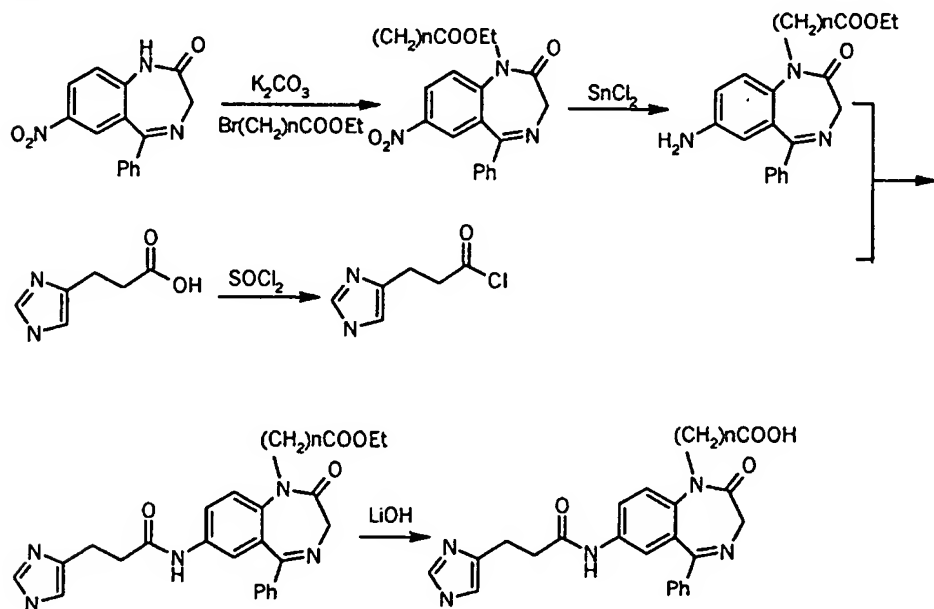
方法一:



00.03.15



方法二:



本发明的化合物有明显的抑制法尼基蛋白转移酶（FPTase）的活性，并抑制癌基因表达的 Ras 蛋白的法尼基化。

本发明的化合物能抑制癌细胞生长信号的转导，因而能抑制癌的生长。

由此可见，本发明的化合物可以用于治疗但不仅限于如下疾病：如结肠癌、胰腺癌、白血病和神经系统癌症等。

本发明的化合物可以用于治疗其他因基因突变引起的细胞增殖性疾病。

本发明的化合物可单独或组合用于治疗以上疾病。

本发明化合物可用口服方法或非肠胃道用药。口服用药可以是片剂、胶囊剂、包衣剂，非经肠胃道用药剂型有注射剂和栓剂等。这些制剂是按照本领域的技术人员所熟知的方法制备的。为制造片剂、胶囊剂、包衣剂所用的辅料是常规用的助剂，例如淀粉，明胶，阿拉伯胶，硅石，聚乙二醇；液体剂型所用的溶剂例如有水，乙醇，丙二醇，植物油类如玉米油，花生油，橄榄油等。含有本发明化合物的制剂中还可有其他助剂，例如表面活性剂，润滑剂，崩解剂，防腐剂，矫味剂，色素等。

在片剂、胶囊剂、包衣剂，注射剂或栓剂中含有本发明式I化合物的剂量是以单元剂型中存在的化合物量计算的。在单元剂型中本发明式I化合物一般含量为 10—500mg，优选的单元剂型含有 20—100mg。

为治疗结肠癌、胰腺癌和骨髓白血病等其他细胞增殖性疾病，患者服用剂量为 0.1mg/Kg\_60mg/Kg 每天，优选剂量为 0.5mg/Kg-40mg/Kg 每天。

以下将结合实施例对发明作进一步说明，但并不限制本发明的范围。

方法一：

#### 7-硝基-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基)苯并二氮杂卓的制备

##### 实施例 1 7-硝基-1-乙氧羰基亚甲基苯并二氮杂卓的制备

50ml 圆底烧瓶中加入 7-硝基苯并二氮杂卓 (2.0g 7.2mmol)、碳酸钾 (20g 14.4mmol)、20ml 乙腈和溴乙酸乙酯 (1.8g 10.6mmol)，室温反应 2 小时。反应毕加入 50 ml 水，用乙酸乙酯萃取，减压浓缩除去乙酸乙酯，剩余物用无水乙醇重结晶，得 1.8g 白色结晶。经测定该结晶物为 7-硝基-1-乙氧羰基亚甲基苯并二氮杂卓。mp:141-143°C,收率 81.6%。



实施例2 7-硝基-1-(2-甲氧羰基乙基)苯并二氮杂卓的制备

以实施例1相同的方法进行,不同的是取3-溴丙酸甲酯1.8g代替溴乙酸乙酯,得油状物。该油状物为7-硝基-1-(2-甲氧羰基乙基)苯并二氮杂卓,不经进一步纯化留做实施例5中使用。

实施例3 7-硝基-1-(3-乙氧羰基丙基)苯并二氮杂卓的制备

以实施例1相同的方法进行,不同的是取4-溴丁酸乙酯1.8g代替溴乙酸乙酯,得油状物。该油状物为7-硝基-1-(3-乙氧羰基丙基)苯并二氮杂卓,不经进一步纯化留做实施例6中使用。

7-氨基-1-( $\omega$ -烷氧羰基烷基)苯并二氮杂卓的制备实施例4 7-氨基-1-乙氧羰基亚甲基苯并二氮杂卓的制备

取50ml三口瓶加入经实施例1制备的7-硝基-1-乙氧羰基亚甲基苯并二氮杂卓和氯化亚锡(4.8g 21.6mmol),再加入30ml乙醇,氮气保护下50-70℃反应4小时,反应毕浓缩除去乙醇,加入20ml饱和碳酸钠溶液,用二氯甲烷萃取,再浓缩除去二氯甲烷,用二氯甲烷和石油醚重结晶得浅黄色固体1.7g,mp:164-165℃,收率91.8%。经测定该固体为7-氨基-1-乙氧羰基亚甲基苯并二氮杂卓。

实施例5 7-氨基-1-(2-甲氧羰基乙基)苯并二氮杂卓的制备

以实施例4相同的方法进行,不同的是取实施例2的油状7-硝基-1-(2-甲氧羰基乙基)苯并二氮杂卓代替7-硝基-1-(乙氧羰基亚甲基)苯并二氮杂卓。用二氯甲烷重结晶得浅黄色固体,收率53.5%,mp:148-151℃。经测定该固体为7-氨基-1-(2-甲氧羰基乙基)苯并二氮杂卓。

### 实施例 6 7-氨基-1-(3-乙氧羰基丙基)苯并二氮杂卓的制备

以实施例 4 相同的方法进行,不同的是取实施例 3 的油状 7-硝基-1-(3-乙氧羰基丙基)苯并二氮杂卓代替 7-硝基-1-(乙氧羰基亚甲基)苯并二氮杂卓。用二氯甲烷重结晶得浅黄色固体,收率 48.4%,mp:175-177℃。经测定该固体为 7-氨基-1-(3-乙氧羰基丙基)苯并二氮杂卓。

### 保护组氨酸的制备

### 实施例 7 N<sup>m</sup>-2,4-二硝基苯基-N<sup>o</sup>-乙酰组氨酸的制备

L-组氨酸(5.0g 32mmol)中加入 18.5ml 冰醋酸,室温搅拌下滴加 3.5ml 乙酸酐和 9ml 冰醋酸的溶液,迅速升温至 100℃搅拌 5 分钟。反应毕加入少量水,蒸干溶剂得白色固体 5.4g。

上述固体中加入 6.0g 碳酸氢钠和 40ml 水,搅拌下慢慢滴加 2,4-二硝基氟苯(5.0g 27mmol)和 25ml 甲醇的溶液,室温反应一天。反应毕用浓盐酸酸化,蒸干溶剂得黄色固体,用柱层析分离,然后用甲醇重结晶 5 次得奶黄色固体 6.0g,收率 62.1%,mp:117-119℃。经检测此固体为 N<sup>m</sup>-2,4-二硝基苯基-N<sup>o</sup>-乙酰组氨酸。

### 实施例 8 N<sup>m</sup>-2,4-二硝基苯基-N<sup>o</sup>-苯甲酰组氨酸的制备

L-组氨酸(5.0g 32mmol)中加入 9ml 15%氢氧化钠和 60ml 水溶解,冰浴冷却下滴加苯甲酰氯(7.5ml 64.4mmol)再滴加 18ml 15%氢氧化钠溶液。滴毕继续冰浴反应 1 小时,然后用浓盐酸酸化,滤集析出的固体,用石油醚洗去生成的苯甲酸,得 6.0g N<sup>o</sup>-苯甲酰组氨酸,mp:244-247℃,收率 81.0%。

上述固体中加入碳酸氢钠(2.2g)和 20ml 水,慢慢滴加 2,4-二硝基氟苯(5.0g 27mmol)和 25ml 甲醇的溶液,室温反应一天。反应毕用浓盐酸酸化,滤集析出的黄色固体,用柱层析分离,得浅黄色固体 5.05g,收率 61.6%,mp:127-130℃。经检测此固体为 N<sup>m</sup>-2,4-二硝基苯基-N<sup>o</sup>-苯甲酰组氨酸。

实施例 9 3-(4-(N<sup>m</sup>-2,4-二硝基苯基咪唑基)) 丙烯酸的制备

3-(4-咪唑基) 丙烯酸(2.0g 14.0mmol)中加入碳酸氢钠 3.2g 和 20ml 水溶解, 室温慢慢滴加 2, 4-二硝基氟苯(2.96g 16mmol)和 10ml 甲醇的溶液, 室温反应一天, 用浓盐酸酸化, 滤集析出的红色固体, 用甲醇重结晶得浅黄色固体 1.6g, 收率 36.4%。经测定此固体为 3-(4-(N<sup>m</sup>-2,4-二硝基苯基咪唑基)) 丙烯酸。

7-(N<sup>o</sup>-乙酰组胺酰胺基)-1-(ω-羧基烷基) 苯并二氮杂卓的制备实施例 10 7-(α-乙酰组胺酰胺基)-1-羧基亚甲基苯并二氮杂卓的制备

N<sup>m</sup>-2,4-二硝基苯基-N<sup>o</sup>-乙酰组氨酸(1.62g 4.4mmol)与 DCC(0.72g 3.5mmol)和 HOBT(1.0g 7.7mmol)溶于 20ml DMF 中, 在冰浴下反应 1 小时, 然后加入 7-氨基-1-乙氧羰基亚甲基苯并二氮杂卓(1.0g 3.0mmol), 继续冰浴反应 2 小时, 室温反应一天。滤除生成的 DCU, 加入饱和碳酸氢钠水溶液 100ml, 析出灰色固体, 滤集固体 2.0g。此固体为 7-(N<sup>m</sup>-2,4-二硝基苯基-N<sup>o</sup>-乙酰组胺酰胺基)-1-乙氧羰基亚甲基苯并二氮杂卓, 不经进一步纯化直接进行如下脱保护反应。

上述固体中加入 10ml 2-巯基乙醇, 室温搅拌 2 小时, 加入饱和碳酸氢钠水溶液 100ml 析出灰黄色固体, 滤集固体 1.0g, 此固体 7-(N<sup>o</sup>-乙酰组胺酰胺基)-1-乙氧羰基亚甲基苯并二氮杂卓, 不经纯化进行如下水解反应。

上述固体溶于 8ml 甲醇和 2ml 水中, 加入 0.3g 氢氧化锂, 室温反应 2 小时。用醋酸酸化反应液, 其 pH 为 4, 蒸干溶剂, 得到的固体进行柱层析分离, 活性炭脱色, 然后冷冻干燥得白色固体 0.35g, mp: 246-248℃. 收率 23.8% (以 7-氨基-1-乙氧羰基亚甲基苯并二氮杂卓计)。经测定此固体为 7-(N<sup>o</sup>-乙酰组胺酰胺

基)-1-羧基亚甲基苯并二氮杂卓。

FAB 质谱  $m/e$  489(M+1)

$^1\text{H}$ NMR(300MHz DMSO- $d_6$ )

1.79(s 3H) ,2.49-2.97(m 1H) ,3.70-3.74(d 1H),3.88-3.95(t 1H),4.21-4.27(d 1H),4.46-4.57(m 2H),6.71(s 1H), 7.38-7.76(m 8H),8.52-8.71(t 1H),10.68(s 1H)。

#### 实施例 11 7-(N<sup>o</sup>-乙酰组胺酰胺基)-1-(2-羧基乙基) 苯并二氮杂卓的制备

以实施例 10 相同的方法进行,不同的是取 7-氨基-1-(2-甲氧羰基乙基) 苯并二氮杂卓代替实施例 10 的 7-氨基-1-乙氧羰基亚甲基苯并二氮杂卓,得白色固体 0.4g,mp:195-198℃分解,收率 27.5% (以 7-氨基-1-(2-甲氧氧羰基乙基) 苯并二氮杂卓计)。经测定此固体为 7-(N<sup>o</sup>-乙酰组胺酰胺基)-1-(2-羧基乙基) 苯并二氮杂卓。

#### 实施例 12 7-(N<sup>o</sup>-乙酰组胺酰胺基)-1-(3-羧基丙基) 苯并二氮杂卓的制备

以实施例 10 相同的方法进行,不同的是取 7-氨基-1-(3-乙氧羰基丙基) 苯并二氮杂卓代替实施例 10 的 7-氨基-1-乙氧羰基亚甲基苯并二氮杂卓,得白色固体 0.3g,mp:200-204℃分解,收率 27.5% (以 7-氨基-1-(3-乙氧羰基丙基) 苯并二氮杂卓计)。经测定此固体为 7-(N<sup>o</sup>-乙酰组胺酰胺基)-1-(3-羧基丙基) 苯并二氮杂卓。



### 实施例 13 7-(N°-苯甲酰组胺酰胺基)-1-羧基亚甲基苯并二氮杂卓的制备

以实施例 10 相同的方法进行，不同的是以 N<sup>m</sup>-2,4-二硝基苯基-N°-苯甲酰组氨酸（1.8g 4.4mmol）代替 N<sup>m</sup>-2,4-二硝基苯基-N°-乙酰组氨酸，得 7-(N°-苯甲酰组胺酰胺基)-1-羧基亚甲基苯并二氮杂卓 0.45g，收率 26.5%，mp:226-229℃分解。

<sup>1</sup>HNMR(300MHz DMSO-d<sub>6</sub>)

2.95-3.08(m 2H), 3.78-3.82(d 1H), 4.41-4.56(dd 2H), 4.56-4.62(d 1H), 4.67-4.72(m 1H), 6.84(s 1H), 7.42-7.56(m 11H), 7.81-7.84(m 3H), 7.91-7.94(m 1H), 8.67-8.69(d 1H), 10.30(s 1H)。

### 实施例 14 7-(N°-苯甲酰组胺酰胺基)-1-(2-羧基乙基)苯并二氮杂卓的制备

以实施例 11 相同的方法进行，不同的是以 N<sup>m</sup>-2,4-二硝基苯基-N°-苯甲酰组氨酸（1.8g 4.4mmol）代替 N<sup>m</sup>-2,4-二硝基苯基-N°-乙酰组氨酸，得白色固体 0.3g，收率 13.6%，mp:189-192℃分解。经测定此固体为 7-(N°-苯甲酰组胺酰胺基)-1-(2-羧基乙基)苯并二氮杂卓。

### 实施例 15 7-(N°-苯甲酰组胺酰胺基)-1-(3-羧基丙基)苯并二氮杂卓的制备

以实施例 12 相同的方法进行，不同的是以 N<sup>m</sup>-2,4-二硝基苯基-N°-苯甲酰组氨酸（1.8g 4.4mmol）代替 N<sup>m</sup>-2,4-二硝基苯基-N°-乙酰组氨酸，得白色固体 0.4g，收率 17.8%，mp:194-197℃分解。经测定此固体为 7-(N°-苯甲酰组胺酰胺基)-1-(3-羧基丙基)苯并二氮杂卓。

### 实施例 16 7-(3-(4-咪唑基)丙烯酰胺基)-1-羧基亚甲基苯并二氮杂卓的制备

以实施例 10 相同的方法进行,不同的是以 3-(4-(N<sup>m</sup>-2,4-二硝基苯基咪唑基))丙烯酸代替 N<sup>m</sup>-2,4-二硝基苯基-N<sup>a</sup>-乙酰组氨酸,得白色固体 0.25g,收率 21.4%, mp:202-205℃分解。经测定此固体为 7-(3-(4-咪唑基)丙烯酰胺基)-1-羧基亚甲基苯并二氮杂卓。

<sup>1</sup>HNMR(300MHz DMSO-d<sub>6</sub>)

3.71-3.74(d 1H),3.86-3.91(d 1H),4.21-4.27(d 1H),4.49-4.53(d 1H),6.93-6.74(d 1H),7.34-7.68(m 10H),7.82-7.86(t 1H),10.42(s 1H)。

以下实施例将具体描述方法二的步骤:

### 实施例 17 3-(4-咪唑基)丙酸的制备

3-(4-咪唑基)丙烯酸(7.0g 50mmol)溶于 150ml 冰醋酸中,加入 350mg 10% Pd/C,在 1.5 atm 氢气压下反应至不吸氢为止,滤除催化剂,蒸去醋酸,用乙醇和石油醚结晶得白色固体 6.7g,收率 95%, mp:197-201℃。

### 7-(3-(4-咪唑基)丙酰胺基)-1-(ω-羧基烷基)苯并二氮杂卓得制备

### 实施例 18 7-(3-(4-咪唑基)丙酰胺基)-1-羧基亚甲基苯并二氮杂卓得制备

3-(4-咪唑基)丙酸(1g 7.1mmol)中加入 15ml 新蒸的氯化亚砷,放置过夜,蒸去氯化亚砷,加入二氯甲烷 30ml 和 DMF10ml,0℃下慢慢滴入三乙胺(1ml 7.3mmol)和 7-氨基-1-乙氧羰基亚甲基苯并二氮杂卓(2.4g 7.1mmol)和 20ml 二

氯甲烷的溶液，滴毕室温反应一天。蒸去溶剂，柱层析分离得灰白色固体 2.0g，此固体为 7-(3-(4-咪唑基)丙酰胺基)-1-乙氧羰基亚甲基苯并二氮杂卓，不经纯化进行如下反应。

上述固体溶于 30ml 和 10ml 水中，加入氢氧化锂(0.9g 20mmol)，室温搅拌 1 小时，用醋酸酸化，蒸去溶剂，柱层析分离，活性炭脱色，然后冷冻干燥得白色固体 1.1g，总收率 34.8%，mp:218-220℃.经测定此固体为 7-(3-(4-咪唑基)丙酰胺基)-1-羧基亚甲基苯并二氮杂卓。

<sup>1</sup>HNMR(300MHz DMSO-d<sub>6</sub>)

2.50-2.55(m 1H),2.71-2.76( m 1H),3.68-3.72(d 1H),3.93-3.98(d 1H),4.18-4.23(d 1H),4.48-4.51(d 1H),6.68(s 1H),7.29-7.58(m 8H),7.70-7.72(d 1H),10.27(s 1H)。

#### 实施例 19 7-(3-(4-咪唑基)丙酰胺基)-1-(2-羧基乙基)苯并二氮杂卓的制备

以实施例 18 相同得方法进行，不同的是以 7-氨基-1-(2-甲氧羰基乙基)苯并二氮杂卓代替 7-氨基-1-乙氧羰基亚甲基苯并二氮杂卓。得白色固体 1.2g,mp:160-163℃,收率 38.0%。经测定此固体为 7-(3-(4-咪唑基)丙酰胺基)-1-(2-羧基乙基)苯并二氮杂卓。

#### 实施例 20 7-(3-(4-咪唑基)丙酰胺基)-1-(3-羧基丙基)苯并二氮杂卓的制备

以实施例 18 相同的方法进行,不同的是以 7-氨基-1-(3-乙氧羰基丙基)苯并二氮杂卓代替 7-氨基-1-乙氧羰基亚甲基苯并二氮杂卓。得白色固体 1.1g,mp:128-131℃,收率 33.7%。经测定此固体为 7-(3-(4-咪唑基)丙酰胺基)-1-(3-羧基丙基)苯并二氮杂卓。

#### 实验例 1 法尼基蛋白转移酶抑制剂活性实验

法尼基蛋白转移酶抑制剂活性依据将 $[^3\text{H}]$ 标记的法尼基磷酸盐中 $[^3\text{H}]$ 法尼基蛋白转移酶 p21H-Ras 蛋白的量而定,每个反应总体积 25  $\mu\text{l}$ ,其中含有 50m Tris-Cl(pH7.5), 25mMgCl<sub>2</sub>,20mMKCl, 1mMDTT, 2.5-5  $\mu\text{M}$  MP21H-ras, 10-15pmolFPP (25,000-30,000dpm/pmol) 或 GGPP 和 6-7  $\mu\text{g}$  部分纯化法尼基蛋白转移酶以及不同浓度的受试化合物。反应物在硅化管避光条件下, 37℃反应 1 小时,加入 SDS 和 TCA 终止反应。加入 2ml6%TCA 和 2%SDS 混合液,充分混匀后,放置冰上一小时。反应物通过直径为 2.4cm 的玻璃滤膜过滤,6%TCA 反复冲洗滤膜,置液闪仪上测定并计数。同时设不含酶或不含 P21H-ras 蛋白的空白对照,计算时减去空白对照组, Bio-Rad 法测定蛋白浓度。

为了鉴定 H-Ras P21 蛋白的法尼基化,参照 Laemmliin 方法进行 SDS/PAGE 电泳。在上述反应物中加入 5 SDS 样品缓冲液终止反应,上样并经 12.5%SDS/PAGE 胶分析,电泳后用 Enlightning 处理,并将胶固定,加用增感屏放置-7 曝光 14-30 天,便清楚可见法尼基化 H-ras 蛋白的位置。



用以上方法对本发明的部分化合物进行活性测定其结果如下：

化合物	对法尼基蛋白转移酶抑制率（%）			
	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$
实施例 1	0	50.8		
实施例 14	48.6	55.0		
实施例 17		34.3	62.9	
实施例 18		0	61.6	
实施例 19		37.5	52.0	
实施例 20		55.7	58.4	56.8

说明：由于计算机字库的原因，本说明书中的“卓”应为“草”。